

## COMMUNICATIONS

---

### **A propos de l'isolement de quelques souches de *Miyagawanella psittaci***

par Mme J. VIRAT, MM. A. VALLÉE, J. C. GUILLON  
et L. CHAUMONT

---

Les agents du groupe ornithose-lymphogranulomatose-trachome, classés selon les auteurs parmi les Chlamydiacées, Miyagawanelles, Bedsonia ou Néo-rickettsies, se différencient des virus, avec lesquels ils ont été longtemps confondus, par leur structure chimique voisine de celle des bactéries (complexe glucido-lipidique avec les acides ribonucléiques), par leurs formes visibles, colorables. Leur multiplication est encore mal connue ; celle-ci n'est possible que sur un milieu vivant, particularité que l'on retrouve aussi chez les virus. Ils sont toutefois sensibles à certaines substances bactéricides, notamment à la chlortétracycline (auréomycine), à condition cependant que le traitement des malades ait été mis en œuvre précocement et qu'il dure suffisamment longtemps pour éviter les rechutes.

Les différents agents du groupe ont un pouvoir pathogène pratiquement semblable vis-à-vis des animaux de laboratoire et de l'œuf de poule en incubation ; ils possèdent en commun un antigène phospholipidique fixant le complément ; ils se différencient par leurs hôtes d'élection et l'on trouvera des agents plus particulièrement pathogènes pour les oiseaux (ornithose-psittacose), d'autres qui auront une action plus différenciée chez les mammifères : lymphogranulomatose vénérienne (maladie de Nicolas et Favre) et trachome de l'homme, pneumonie du chat, de la souris, avortement de la brebis, etc... Le passage de l'oiseau à l'homme, dans les conditions naturelles, est fréquemment observé et c'est ce problème qui nous intéresse plus particulièrement ici.

Dans une importante revue épidémiologique de la question, parue en 1961, ROGER et LÉPINE (5) citent tous les travaux faits

à l'occasion de chaque épidémie et évoquent notamment la pandémie de 1929-1930 avec plus de 800 cas dont au moins 150 mortels.

En 1951, LÉPINE et SAUTER (3) publient les résultats d'une enquête réalisée parmi les pigeons de Paris et mettent l'accent sur le danger qu'ils font courir à la population. Nous savons maintenant que l'ornithose subsiste à l'état endémique. Elle est à l'origine d'un certain nombre de pneumopathies humaines dont l'étiologie a été précisée par les épreuves sérologiques. Ainsi, grâce à la méthode de fixation du complément, nous avons relevé en France, de 1959 à 1966, 114 cas positifs probables. Nous n'avons retenu comme positifs que les titres supérieurs à 1/20 (selon PEILLARD et coll. le titre de 1/40 doit être interprété comme une forte présomption mais un titre de 1/16 traduit une atteinte récente probable) (4).

Les sérums des malades provenaient aussi bien de la province que de Paris et les sources éventuelles de contamination ont été rarement signalées. Toutefois 6 cas ont été détectés chez des éleveurs de pigeons, 1 cas chez une personne s'occupant de volières, sans que les espèces d'oiseaux occupant ces volières aient été précisées. Retenons enfin 8 cas de contact avec des psittacidés, soit 7 p. 100, ce qui n'est pas négligeable. Nous regrettons de ne pouvoir préciser l'origine de la maladie qui affecta 3 membres d'une même famille ; la contamination par les oiseaux d'agrément semble probable encore que le passage d'homme à homme ait déjà été démontré (contaminations hospitalières) (1).

Chez l'oiseau, source du contagé, l'existence de la maladie ne peut être affirmée qu'après l'isolement de l'agent pathogène. Les signes cliniques, en effet, ne sont guère différents de ceux provoqués par certaines bactéries : on constate habituellement de l'inappétence, de l'amaigrissement et, en règle générale, une diarrhée persistante. L'autopsie révèle une splénomégalie particulièrement importante : la rate a souvent un volume quadruple de celui d'une rate normale. Il n'y a pas habituellement d'hépatomégalie mais on voit fréquemment sur le foie des foyers de nécrose plus ou moins volumineux. Occasionnellement on peut observer des lésions d'hépatisation sur les poumons.

Les examens histologiques n'ont été réalisés qu'exceptionnellement. Dans un cas nous avons constaté une hépatite aiguë, hémorragique, avec rétention biliaire intense et foyers de nécrose centro-lobulaires, une néphrite épithéliale et, dans la rate, par ailleurs très érythropoïétique, de nombreux petits foyers de nécrose envahis par des histiocytes en fonction macrophagique. La coloration de Giemsa, si elle permet de mettre en évidence dans les

cellules des granulations morphologiquement comparables aux corps élémentaires, ne permet pas de différencier celles-ci d'autres inclusions et notamment de débris cellulaires phagocytés.

#### DIAGNOSTIC PAR EXAMEN DIRECT

Il est délicat et n'est possible que lorsque l'animal a été sacrifié au laboratoire. Tout envoi d'un cadavre ou même des organes de l'oiseau rend l'examen pratiquement impossible en raison de la présence des germes qui envahissent l'organisme après la mort. Au contraire, en l'absence de surinfection, la mise en évidence des corps élémentaires permet de conclure rapidement à la suspicion. Nous avons adopté la technique suivante :

La rate de l'oiseau est coupée transversalement et la section obtenue est appliquée sur une lame histologique afin d'obtenir une empreinte mince qui sera colorée au Giemsa. Les corps élémentaires sont faciles à reconnaître lorsqu'ils sont intracellulaires ; ils se présentent alors sous l'aspect de fins corpuscules groupés et colorés en bleu soutenu. Leur dissémination extracellulaire ne permet pas une reconnaissance aussi aisée ; un artefact de coloration peut dans ce cas simuler les corps élémentaires.

#### DIAGNOSTIC PAR ISOLEMENT DE L'AGENT INFECTIEUX

La présence de l'agent du groupe ornithose-psittacose doit obligatoirement être confirmée par son isolement.

L'animal de choix est la souris jeune (moins de 15 jours) et même le souriceau nouveau-né ; la souris serait d'ailleurs plus sensible à la psittacose qu'à l'ornithose.

Les organes de l'oiseau les plus riches en corps élémentaires sont le poumon, le foie et la rate ; c'est à partir de cette dernière que toutes nos souches ont été isolées.

#### *Technique d'inoculation :*

Un broyat d'organe est émulsionné en soluté physiologique puis on laisse sédimenter, sans centrifugation, afin de permettre la diffusion de l'élément infectieux ; le surnageant est inoculé à un premier lot de 5 souris, par voie intracérébrale, sous un volume de 0,02 ml. Un deuxième lot de 5 jeunes souris reçoit 0,25 ml par voie intrapéritonéale.

*Résultats :*

Chez les souris inoculées par la voie intracérébrale les premiers signes de la maladie se manifestent 3 à 4 jours après l'inoculation par un syndrome de méningo-encéphalite accompagné de convulsions. Les animaux malades sont sacrifiés, saignés et laissés 1 heure à + 4° C avant l'autopsie. Lors de celle-ci, on constate des lésions de méningo-encéphalite avec dilatation ventriculaire. Des calques du cerveau sont alors examinés après coloration au Giemsa (1<sup>er</sup> calque sur le cerveau laissé en place dans la boîte crânienne ; 2<sup>e</sup> au niveau des plexus choroïdes après une coupe transversale passant par le chiasma optique). Les corps élémentaires intra et extracellulaires et les corps initiaux intracellulaires sont visibles sur ces calques, comme ils le sont sur les empreintes directes de la rate.

Chez les souris inoculées par la voie intrapéritonéale, l'évolution de la maladie est plus longue, 7 à 8 jours environ. A l'autopsie, on met en évidence un exsudat péritonéal abondant pouvant aller jusqu'à 10 ml ; la rate est très largement augmentée de volume ; le foie est pâle. Les poumons, comme chez le perroquet, sont en général normaux ; sur les frottis du liquide d'ascite, on peut voir, après coloration, de nombreux corps élémentaires libres.

Si le matériel est surinfecté on préférera la voie péritonéale à la voie cérébrale. L'animal de laboratoire est moins sensible par cette voie aux germes de contamination secondaire susceptibles d'avoir envahi l'organisme. L'addition d'antibiotiques au matériel d'inoculation n'est pas recommandée, les agents du groupe des chlamydiacées étant sensibles à certains d'entre eux. Toutefois, la maladie de la souris, après inoculation intrapéritonéale, ne permet pas d'en affirmer l'origine psittacosique, les corps élémentaires libres dans l'ascite étant difficiles à identifier. Il est alors indispensable de procéder, soit à un nouveau passage chez la souris par voie intracérébrale, soit à un passage sur l'œuf embryonné. Le passage direct sur œuf est à proscrire, la présence fréquente des germes risquant de provoquer la mort rapide de l'embryon avant une éventuelle multiplication de l'agent infectieux ; mais l'inoculation à la souris « filtrant » le germe, l'inoculation *in ovo* n'offre plus de difficultés ; elle se fait par voie vitelline chez des œufs au 5<sup>e</sup> jour de l'incubation. La mort de l'embryon survient à partir du 3<sup>e</sup> jour ; on fait un frottis de chaque sac vitellin et la présence de corps élémentaires est vérifiée après coloration. Les sacs vitellins sont recueillis stérilement et l'antigène fixant le complément est préparé selon la méthode de VOLKERT et coll. (6). La valeur de cet antigène est vérifiée vis-à-vis d'un sérum de référence.

## OBSERVATIONS PERSONNELLES

*Cas 64-3980* : poumon et rate de souris en provenance du laboratoire départemental de Biologie et d'Hygiène du Calvados (Dr. Vét. PITRE). Ces organes nous ont été envoyés pour confirmation de psittacose chez des perroquets récemment importés du Brésil. Plusieurs cas de réactions sérologiques positives nous sont signalés dans l'élevage. 5 perroquets sont morts. Le germe est isolé des organes de la souris.

*Cas 65-2649 et 65-2650* : il s'agit de perroquets récemment importés de l'Amérique du Sud par la Hollande. Ces oiseaux se trouvaient dans un parc zoologique de l'Aisne. 16 sur 18 sont morts et les deux derniers ont été sacrifiés. D'autres oiseaux étaient depuis longtemps dans le parc et chez ces derniers aucun symptôme de la maladie n'a été signalé.

*A l'autopsie* : congestion intestinale violente et péritonite ; foie congestionné, décoloré par endroits et portant parfois de petits nodules blanchâtres (Dr. Vét. POTENTIER).

Le germe est isolé sur souris et sur œuf pour le cas 65-2649 ; pas d'isolement pour le cas 65-2650.

*Cas 66-1031* : il s'agit d'un perroquet rescapé d'un lot de 3 perroquets importés d'Amérique, sans précision de date. Les propriétaires du perroquet : père, mère et fils ont tous eu des troubles pulmonaires. Après un traitement à la Tifomycine, les malades se sont rétablis plus ou moins rapidement. Le sérum de M. et Mme B... est positif respectivement à 1/40 et 1/80 vis-à-vis de l'antigène du groupe. L'oiseau est sacrifié.

*A l'autopsie* : important foyer de pneumonie. Lesensemencements de la lésion ne permettent d'isoler qu'un *Penicillium* saprophyte.

L'agent de la psittacose est isolé sur souris et œuf de poule en incubation.

Le sérum de l'oiseau fixe le complément à 1/40 en présence de l'antigène du groupe de la psittacose.

*Cas 67-276* : perroquet mort après quelques jours de maladie. Au cours de celle-ci, on a observé de la diarrhée. L'examen nécropsique révèle la présence de foyers de nécrose sur le foie et une splénomégalie.

L'essai d'isolement est compromis par la présence de *Salmonella typhimurium* dans le matériel d'inoculation.

*Cas 67-517* : perroquet acheté le 23. 12. 66. Dans les premiers jours de janvier, l'oiseau est atteint de diarrhée. Il meurt le 20 janvier.

Le calque de la rate coloré au Giemsa montre de nombreux corps élémentaires ; l'inoculation à la souris et à l'œuf de poule en incubation met en évidence le germe de la psittacose.

La propriétaire est tombée malade à la même époque (syndrome fébrile) mais deux échantillons de sérum prélevés à 15 jours d'intervalle ont été négatifs en fixation du complément.

*Cas 67-352* : perroquet vivant en appartement depuis plusieurs mois ; la propriétaire nous autorise à le sacrifier après un examen sérologique positif à 1/40 (fixation du complément). Les essais d'isolement de *Miyagawanella psittaci* échouent. Le sérum de deux autres perroquets et d'un cacatoès vivant avec le perroquet malade sont négatifs, de même que le sérum de la propriétaire et de sa mère.

*Cas 67-516* : perruche ondulée atteinte d'amaigrissement avec diarrhée ; prostration.

A l'autopsie on constate des lésions de pneumonie.

L'isolement est positif.

*Cas 67-1587 et 67-1588* : perruches de même provenance qui vivaient dans une volière où sévissait une maladie mortelle caractérisée par de la diarrhée.

A l'autopsie : rate hypertrophiée et nombreux foyers de nécrose sur le foie.

L'isolement est positif.

*Cas 67-5349* : canaris et perruches, de provenances diverses, appartenant à un revendeur d'oiseaux.

Les premiers canaris envoyés sont atteints de pneumonie et nous pensons à la « maladie de Kikuth ».

Les canaris et les perruches d'un 2<sup>e</sup> envoi n'ont pas de lésions pulmonaires. Certains oiseaux ont de l'entérite. Chez d'autres on constate de la splénomégalie et des foyers de nécrose miliaire sur le foie. *Salmonella typhimurium* est isolée du contenu intestinal de 2 canaris et de 2 perruches. La rate d'une 3<sup>e</sup> perruche nous permet d'isoler *M. psittaci*.

## DISCUSSION

Sur dix perroquets ou perruches reçus au laboratoire nous avons isolé 8 fois l'agent de la psittacose ; de plus, le sérum de l'un des

perroquets chez lequel nous n'avons pu isoler l'agent responsable de la maladie fixait le complément à 1/40 en présence de l'antigène du groupe, ce qui semble indiquer que l'animal avait hébergé le germe plus ou moins récemment.

Si dans l'un des cas, les prélèvements provenaient d'un oiseau mis en quarantaine, dans tous les autres cas ils provenaient soit d'oiseaux d'un parc zoologique, soit d'oiseaux dits d'agrément et vivant en contact étroit avec l'homme. L'une des propriétaires ne nous a-t-elle pas avoué qu'il lui arrivait de donner la becquée à ses oiseaux !

Aux Etats-Unis DEAN et coll. (2) ont constaté une augmentation très nette des cas de psittacose chez les personnes ayant des contacts avec les psittacidés (de 0,75 cas par an, en moyenne pour la période comprise entre 1932 et 1951, à 11,6 cas, en moyenne, de 1952 à 1960). Les conditions dans lesquelles ont été faites nos épreuves sérologiques chez l'homme ne nous ont malheureusement pas permis de préciser l'origine du contag, mais nos observations prouvent néanmoins que la psittacose est une réalité dont on ne doit pas sous-estimer la gravité. Elles vont à l'encontre de ce que nous avons relevé récemment dans un journal destiné aux amateurs d'oiseaux, à savoir : « sur le plan pratique il est exceptionnel de rencontrer un perroquet atteint » (sous-entendu de psittacose). Cela doit inciter à une surveillance accrue des oiseaux d'agrément introduits en France car nous savons qu'une partie d'entre eux ne subissent pas la quarantaine. En dehors de cela, on ne peut guère envisager qu'une prophylaxie médicamenteuse, par exemple l'addition de tétracycline à la nourriture, préconisée par DEAN et coll. (2).

Le dépistage des oiseaux porteurs de germes par l'examen de leur sérum est une excellente mesure ; il n'est besoin que d'une ou deux gouttes de sérum pour réaliser les épreuves de fixation du complément et celles-ci peuvent indiquer une maladie en cours ou récente sans que les oiseaux en présentent les signes cliniques. Mais elle ne peut avoir qu'une portée limitée car il semble impossible de l'appliquer à tous les oiseaux mis dans le commerce. Il resterait d'ailleurs à résoudre le grave problème des introductions clandestines.

#### CONCLUSION

La quasi-totalité des psittacidés qui meurent en France chaque année échappant à notre examen il nous est permis de conclure, compte tenu de la fréquence de l'isolement de *M. psittaci*, chez

ceux qui nous sont envoyés, que la psittacose n'est pas rare dans notre pays. On regrettera les difficultés d'application des mesures sanitaires qui permettraient de limiter son extension parmi les oiseaux et, *ipso facto*, chez l'homme.

*Institut Pasteur  
Service des Virus  
et Service de Microbiologie Animale.*

### RÉSUMÉ

En France l'importance de l'ornithose, sous sa forme psittacose, ne doit pas être sous-estimée. L'examen de 10 perroquets ou perruches reçus dans les services spécialisés de l'Institut Pasteur, au cours des 4 dernières années, a permis d'isoler *Miyagawanella psittaci* chez 8 oiseaux. En outre, 114 cas probables d'ornithose humaine ont été détectés par la sérologie de 1959 à 1966.

### BIBLIOGRAPHIE

1. BRETON (A.), GAUDIER (B.) et PONTE (C.). — *Arch. Franç. Ped.*, 1960, **17**, 879-885.
  2. DEAN (D. J.), LIEBERMAN (J.), ALBRECHT (R. M.) et Coll. — *Publ. Hlth. Rep. (Wash)*, 1964, **79**, 101-106.
  3. LÉPINE (P.) et SAUTER (V.). — *Bull. Acad. Méd.*, 1951, **135**, 322.
  4. PEILLARD (M.), SOHIER (R.) et GINESTE (J.). — *Ann. Inst. Pasteur.*, 1955, **88**, 446.
  5. ROGER (F.) et LÉPINE (P.). — *Bull. Inst. Pasteur Rev.*, 1961, **59**, 19-33.
  6. VOLKERT (M.) et CHRISTENSEN (P. M.). — *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, 1955, **37**, 211-218.
-